

ISSN 0120-4157

# Biomédica

## Revista del Instituto Nacional de Salud

### PUBLICACIÓN ANTICIPADA EN LINEA

El Comité Editorial de *Biomédica* ya aprobó para publicación este manuscrito, teniendo en cuenta los conceptos de los pares académicos que lo evaluaron. Se publica anticipadamente en versión pdf en forma provisional con base en la última versión electrónica del manuscrito pero sin que aún haya sido diagramado ni se le haya hecho la corrección de estilo.

Siéntase libre de descargar, usar, distribuir y citar esta versión preliminar tal y como lo indicamos pero, por favor, recuerde que la versión impresa final y en formato pdf pueden ser diferentes.

### Citación provisional:

**Mollinedo JS, Mollinedo Z, Magne M, Gironda WJ, Salomón OD.**

Leishmaniasis en Bolivia. Revisión y estado actual en Tarija, Bolivia - frontera con la Argentina. *Biomédica*. 2020;40 (Sp.1).

Recibido: 19-03-19

Aceptado: 12-12-19

Publicación en línea: 22-01-20

**Nota del editor: la referencia 13 era un documento no publicado. Se eliminó de referencias y se incluyó en el texto donde era necesario. Las demás referencias se renumeraron. Revisar que estén correctas las referencias en el texto.**

## **Leishmaniasis en Bolivia. Revisión y estado actual en Tarija, Bolivia - frontera con la Argentina**

### **Leishmaniasis en Tarija-Bolivia frontera Argentina**

### **Comprehensive review and current status in Tarija, Bolivia - border with Argentina**

Juan Sergio Mollinedo <sup>1</sup>, Zoraida Mollinedo <sup>2</sup>, Marcelo Magne <sup>3</sup>, Wilson J. Gironda <sup>4</sup>, Oscar D. Salomón <sup>5</sup>

<sup>1</sup> Instituto de Salud y Medio Ambiente, Asociación Privada de Laboratorios, La Paz, Bolivia

<sup>2</sup> **Incluir sección institucional**, Universidad Amazónica de Pando, Pando, Bolivia

<sup>3</sup> Programa Leishmaniasis, Secretaría Departamental de Salud Tarija, Ministerio de Salud, Tarija, Bolivia

<sup>4</sup> **Incluir sección institucional**, Sociedad Boliviana de Entomología, La Paz, Bolivia

<sup>5</sup> **Incluir sección institucional**, Instituto Nacional Medicina Tropical, Puerto Iguazú, Misiones, Argentina

### **Correspondencia:**

Juan Sergio Mollinedo Pérez

Teléfono celular: X-591-71537553

**Contribución de los autores:**

Juan Sergio Mollinedo: concepción y diseño, investigación operativa del brote, seguimiento de la ecoepidemiología de la zona endémica, aislamiento de parásito, vectores y potenciales reservorios y escritura del manuscrito.

Zoraida Mollinedo: análisis e Interpretación de datos, aislamiento y cultivos, estadística, elaboración de figuras y escritura del manuscrito.

Marcelo Magne: estudio longitudinal, elaboración de estadísticas anuales y seguimiento de casos.

Wilson J. Gironde: aspectos entomológicos, traducción al inglés del resumen y escritura del manuscrito.

Oscar D. Salomón: aporte del escenario eco epidemiológico de la zona común entre Argentina y Bolivia y revisión crítica del manuscrito.

**Introducción.** En 1997 en el departamento de Tarija Bolivia, frontera con Argentina, se notificó por primera vez la presencia de casos humanos con úlceras en partes descubiertas de la piel con características clínicas y epidemiológicas coherentes con leishmaniasis.

**Objetivo.** Describir y comprobar la leishmaniasis en Tarija, sexto departamento endémico en Bolivia.

**Materiales y métodos.** Se realizó un estudio del brote (noviembre 1998 a diciembre 2002), y un estudio longitudinal (1997 a 2018) en humanos, además de capturas de *Phlebotominae* y potenciales reservorios.

**Resultados.** En total se registraron 1.250 pacientes, se reportaron 190 y 249 casos en los brotes de 1998 y 2002, con periodos inter epidémicos de 37 casos como promedio anual; el 68% de los enfermos eran pobladores altiplánicos migrantes, que habitaban viviendas precarias cercanas a bosque residual; el sexo predominante fue masculino (2/1); el grupo económicamente activo (15 a 49 años) fue el más afectado 363 (62%); los menores de 15 años fueron 124 (21%) con 33 menores de 4 años; 51 (8,7%) pacientes tenían lesiones mucosas; se aisló y caracterizó *Leishmania (V.) braziliensis* de úlceras mucosas de perros enfermos; se capturó una abundante especie antropofílica *Nyssomyia neivai*, incriminada como probable vector.

**Conclusiones.** La comprobación inicial (1997) de leishmaniasis tegumentaria en el municipio de Bermejo, para el 2018 se ha extendido a cuatro municipios: Padcaya, Carapari, Entre Ríos y Yacuiba en dirección noreste del departamento de Tarija.

**Palabras clave:** leishmaniasis; *Leishmania braziliensis*; Bolivia; Argentina.

**Introduction:** In the department of Tarija in the Bolivian-Argentine border, human cases with ulcers on uncovered parts of the skin, plus clinical and epidemiological characteristics related to leishmaniasis were reported for the first time in 1997.

**Objective:** To describe and to verify the presence Leishmaniasis in Tarija, sixth endemic department in Bolivia.

**Materials and methods:** Both an outbreak study (November 1998 to December 2002), and a longitudinal study (1997 to 2018) in humans were conducted, in addition both Phlebotominae and potential reservoirs captures.

**Results:** A total of 1,250 patients were registered; in the outbreaks 190 cases (1998) and 249 cases (2002) were reported, with inter-epidemic periods of 37 cases as an annual average. 68% of the were highlander migrants, who inhabited precarious housing near residual forest. The predominant patient sex was male (ratio 2:1). 363 cases (62%) were the most affected with the disease, belonging to the economically-active group (15 to 49 years-old). 124 cases (21%) were children under 15 years old, 33 cases of them were under 4 years old. 51 patients (8.7%) had mucosal lesions. *Leishmania (V). braziliensis* was isolated and characterized from mucous ulcers of sick dogs. *Nyssomyia neivai* (an abundant anthropophilic species) incriminated as probable vector, was captured.

**Conclusions:** The initial 1997 leishmaniasis presence in the municipality of Bermejo has spread out to four municipalities in 2018 (Padcaya, Carapari, Entre Ríos and Yacuiba) in northeast of the department of Tarija.

**Key words:** leishmaniasis; *Leishmania braziliensis*; Bolivia; Argentina.

Las leishmaniasis tienen distribución mundial, en 98 países, con una incidencia anual estimada de 0,7 a 1 millón de casos de leishmaniasis tegumentaria (LT) y entre 200 a 400 mil casos de leishmaniasis visceral (LV) (1). Son infecciones parasitarias con significativa diversidad clínica y epidemiológica, de amplia distribución geográfica en el viejo y nuevo mundo, transmitidas por varias especies de vectores flebotomíneos (*Psychodidae*, *Phlebotominae*) que están asociadas a diferentes parásitos del género *Leishmania* y huéspedes reservorios que propician ciclos de transmisión distintos (2). Las diversas especies de *Leishmania* morfológicamente semejantes, presentan grados variables de especificidad en relación a sus hospederos invertebrados (3). La enfermedad depende de factores inherentes a la respuesta inmune del huésped humano, al agente etiológico y al vector responsable de la transmisión.

Las zonas tropicales y sub tropicales del Estado Plurinacional de Bolivia son áreas endémicas de leishmaniasis: con presencia de leishmaniasis cutánea (LC) y leishmaniasis mucocutánea (LMC) y casos esporádicos de leishmaniasis visceral (LV) (4-5).

Las lesiones atribuidas a la LC y LMC son conocidas desde la época pre-colonial; Pardo-Valle en 1906 define como áreas endémicas las márgenes de los ríos de cinco departamentos (La Paz, Beni, Pando, Santa Cruz y Cochabamba) (6); la generación de diversos estudios confirma que las áreas endémicas se extienden desde las laderas altas (Yungas) y bajas sub andinas (300 a 2000 m) asociadas a los tributarios de la cuenca amazónica, hasta las tierras bajas tropicales de la Amazonia (200 m) (5,6).

En la zona fronteriza entre Bolivia y Argentina, en la eco-región compartida entre ambos países tanto de bosque tropical-subtropical húmedo como de vegetación xerófila (chaco) se registraron casos de LT desde 1916 hasta el primer brote epidémico en la década de (1980)(7-10) y siete casos esporádicos de LV desde 1923 hasta 1932, incluyendo dos migrantes de zonas endémicas de LV de Europa, luego sin nuevos registros hasta 2008(11,12); otra referencia inespecífica señala que en la zona de los ríos Bermejo y grande de Tarija los trabajadores en prospección de petróleo (Richmond Levering 1918 y Standart Oil 1922), se enfermaban con "ulceras redondeadas, bordes elevados, en partes descubiertas de la piel" (Harvey B. Technical report of hygiene digest on work in Bermejo river Tarija - Bolivia. Standart Oil. 1922. No publicado)

## **Material y métodos**

### ***Zona de estudio***

El municipio de Bermejo, alberga la ciudad con el mismo nombre, la más austral de Bolivia, (22° 35' 24'' S. y 64° 14' 55'' W); tiene su origen en las actividades petroleras (1918), y la industria de la caña de azúcar (1972). El territorio del municipio se encuentra en una región mesopotámica entre los ríos Bermejo y Tarija, conformando el Triángulo del Sur a una altura media de 419 m, tiene una temperatura promedio de 22,8° C; la precipitación anual promedio alcanza los 1.200 mm; la topografía es plana con ligeras ondulaciones, con un suelo de origen aluvial arrastrado por los ríos que la rodean, presenta dos zonas eco-climáticas: una zona de bosque húmedo templado (bosque tucumano-boliviano) y otra de bosque seco templado en transición a bosque húmedo (bosque chaco-salteño); la primera región es más apta para la agricultura y ganadería, los principales cultivos son la caña de azúcar, maíz y

cítricos. Cuenta con una población estimada de: 27.372 hab. (1998) y 39.280 hab. (2018); 51% son hombres; el 78,1% de la población está urbanizada, el resto vive en poblaciones periféricas cerca del bosque o ríos; la ciudad de Bermejo se encuentra a 80 km de la frontera con la Argentina (13) (figura 1). Cada año existe un importante flujo de migrantes andinos a la zafra de azúcar, sus viviendas precarias (madera y caña, con peri-domicilios próximos a borde de vegetación densa) se encuentran dispersas a la sombra de bosque residual, dentro o al borde de los campos de azúcar y a poca distancia de ríos y arroyos. La población tiene conocimientos y prácticas inadecuadas para la zona en relación con el manejo del ambiente peri-doméstico y la basura orgánica; tienen hábitos que aumentan la exposición a vectores como mínima vestimenta, dormir fuera de sus viviendas, letrinas rodeadas de vegetación baja, recolección de agua de pozos, arroyos y ríos y leña para cocinar de galerías de bosque; crían animales en intra- y extra-domicilio (aves, cerdos, perros, gatos, conejos, cabras), y no realizan ningún control de animales sinantrópicos, se evidenció la presencia de roedores y marsupiales (Mollinedo S. datos no publicados) (cuadro 1).

### ***Estudio de foco***

A partir de 1997 comenzaron a detectarse casos en el municipio de Bermejo; después de una lenta y tardía notificación se comenzó el estudio de brote noviembre 1998 a diciembre 2002 (46 meses), por el equipo multidisciplinario del Instituto Nacional de Laboratorios de Salud – Institut de Recherche pour le Developement (INLASA / IRD); para posteriormente continuar con un estudio longitudinal hasta el año 2018, por el personal local del SEDES Tarija.



## ***Epidemiología***

La historia clínica *ad hoc* para el estudio de brote, se realizó mediante un examen físico de los enfermos que llegaron espontáneamente al sistema de salud y la detección activa en las zonas de recolección de caña y domicilios rurales; se comenzaron capacitaciones anuales previa validación de cuatro manuales (14-17) seguidos de la supervisión de todo el personal de los centros de salud de la zona.

**a) Detección de pacientes:** se consideraba clínica sospechosa cuando los pacientes presentaban uno de estos signos a) úlcera no provocada por traumatismo b) úlcera con más de 3 semanas de evolución c) úlcera característica (forma redondeada, bordes levantados, rojiza, fondo limpio, poco dolorosa) d) lesiones satélites e) linfadenopatía regional f) lesiones vegetantes o nodulares (14-17).

### **b) Toma de muestra:**

b1. Técnica de raspado de la lesión: previa limpieza de la úlcera, con un palillo de madera (escarbadientes previamente esterilizado) se pincha el borde activo de la lesión (haciendo rotar el palillo), el material obtenido se extiende en un portaobjetos; para posteriormente fijarla (metanol), teñirla (panóptico rápido) y observar al microscopio. Se repitió la toma de muestra de los tres lugares más representativos de cada úlcera. Este procedimiento es el más aplicado y adoptado por los centros de salud de primer nivel (baja complejidad) (4,16,17).

b.2. Punción aspirado: mediante el uso de jeringas cargadas con solución salina tamponada con fosfato (PBS), se pinchaban y aspiraban en tres regiones del borde de la lesión para cultivar en medio NNN (14-17).

**c) Métodos de diagnóstico:**

c.1. Frotis: Se observaban los portaobjetos mediante microscopio con objetivo en aceite de inmersión

c.2. Cultivo: los medios sembrados se trasladaban al laboratorio nacional de Parasitología del INLASA, manteniéndolos en estufa (27°C) se realizaban observaciones de crecimiento cada 48 horas por un periodo de 20 días.

c.3. Inoculación en hámster: Luego de ser inoculados los roedores con muestras procesadas de pacientes, eran transportados al laboratorio nacional, para ser observados por un periodo de seis meses (14-17).

**d) Tratamiento:** Los pacientes con diagnóstico clínico y/o parasitológico positivo, fueron derivados al sistema local de salud para la implementación de tratamiento en base a antimoniales pentavalentes (Glucantime) VIM (15).

***Muestreo de Phlebotominae***

En el periodo de transición a la época de lluvias (octubre 1998), se realizaron capturas de insectos mediante dos métodos: a) con cebo humano protegido y b) trampas de luz CDC. Se establecieron cuatro áreas diferentes de captura: 1. Bosque xéricos (una noche, tres transectos con diez trampas de luz cada uno); 2. Campo de caña (una noche, un transecto con diez trampas de luz); 3. Hábitat rural cubierto de vegetación (una noche, un transecto con seis trampas de luz); 4. Establos de cerdos (una noche, una trampa de luz por establo); los flebotominos fueron procesados e identificados *in situ*, para su transporte posterior al INLASA (18,19); una segunda captura con cebo humano protegido y trampas Shannon se realizó en Naranjitos, Alto Calama y San Telmo (julio 2003).

### ***Reservorios potenciales***

Se investigaron 348 perros (8,6% de áreas rurales y 91,4% de área urbana) (20), realizando frotis de cualquier sospecha de lesiones en hocicos, orejas y lesiones genitales. Se capturaron mamíferos silvestres con trampas Sherman, colocadas al atardecer en transectos de 5, 10, 15 y 20 estaciones con separaciones de 2 m, en 8 hábitats diferentes (plantación de bananos, campo, plantación de maíz, bosque chaqueño, plantación de caña de azúcar de un metro de altura, pastizales, al aire libre e interior de casas).

### ***Aislamiento y tipificación***

Uno de los cuatro perros con úlceras en hocico, orejas y genitales que fueron encontrados en la zona, fue transportado al laboratorio nacional de parasitología para aislamiento y caracterización de parásitos.

Los parásitos del cultivo de la úlcera del hocico del perro se caracterizaron por 8 sistemas isoenzimáticos, comparándolos con 6 cepas de referencia: glucosa fosfatisomerasa (GPI, EC 5.3.1.9), glucosa 6 fosfato deshidrogenasa (G6PD, 1.1.1.49), isocitrato deshidrogenasa (IDH, EC 1.1.1.42), 6-fosfo-gluconato deshidrogenasa (6PGD, EC 1.1.1.44), glutamato oxaloacetato transaminasa (GOT, EC 2.6.1.1.), malato deshidrogenasa NAD (MDH, EC 1.1.1.37), nucleosido hidrolasa, sustrato inosina (NHi, EC 3.2.2.) y diaforasa (DIA, EC 1.6.99.2). El método utilizado para la extracción de ADN se realizó según lo descrito por Breniere et al. (21,22) La extracción de ADN se llevó a cabo en la sangre del perro (conservada en guanidina) y el sedimento parasitario obtenido del cultivo. Estas muestras de ADN se hibridaron posteriormente con sondas de *Leishmania (V) braziliensis* y *Leishmania (L) amazonensis*. La detección por PCR de *Leishmania* se realizó en un cultivo de parásitos a partir de una

muestra de perro, según Breniere *et al.*, (22) con los cebadores L1-5'CCT ACC CAG AGG CCT GTC GGG-3' y L2-5'TAA TAT AGT GGG CCG CGC AC-3' adquiridos en el Laboratorio Eurogentec (SeraingBelgium).

Los productos de PCR se analizaron por electroforesis en geles de agarosa al 1,5% en TAE X 0,5 y se visualizaron en tinción con bromuro de etidio. Cada protocolo incluyó controles negativos y positivos que utilizan agua libre de ADN y ADN parásito purificado como plantilla respectivamente. *Labeling* e hibridación: utilizamos tres sondas kDNA específicas de *Leishmania*, *L. (L) mexicana* (MNYC / BZ / M379), *L. (L) chagasi* (MHOM / BR / 74 / PP75) y *L. (V) braziliensis* (MHOM / BO / 90 / CG), que se produjeron mediante amplificación por PCR (22) utilizando los cebadores L1 y L2 adquiridos en el Laboratorio Eurogentec (Seraing-Bélgica). Los productos de la PCR se transfirieron a una membrana de nylon, el marcaje de las sondas y la hibridación se realizó con el sistema de detección del gen de quimioluminiscencia mejorado (ECL Amersham, Buckinghamshire, Reino Unido) de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

### ***Estudio serológico y PCR***

En julio 2003, se encuestaron 801 personas, tomando 732 muestras sanguíneas en siete comunidades estables de la zona (Cajones, San Antonio, Santa Clara, Trementinal, San Telmo, Quebrada Chica, Alto Calama, y Naranjitos), para detección de anticuerpos contra *Trypanosoma cruzi* (ELISA-Tc y IFI-Tc); detección de anticuerpos contra *Leishmania* spp. (ELISA-SLA y IFI-L) y evaluar la presencia de anticuerpos contra *Leishmania infantum chagasi* (ELISA rk-39) (23).

## **Resultados**

### ***Estudio de brote (1997 al 2002)***

#### **Aspectos clínicos y de diagnóstico**

Inicialmente se realizó la revisión de las fichas clínicas y la búsqueda activa de los casos registrados con anterioridad (32 notificados en 1997 y 190 en 1998), en las poblaciones de: Naranjitos, Campo Grande, Porcelana, Colonia Linares, Barretero, Trementinal, San Telmo, El Nueve y la Ciudad de Bermejo. Se re-examinaron por examen físico general, de piel y mucosas oral y nasal, a 193 (87%) de los inicialmente registrados (se tomó frotis de ocho pacientes con úlceras activas sin tratamiento y sin contaminación microbiana, hallando formas amastigotas de *Leishmania sp.* en 4 frotis). Debido a la capacitación e implementación de los manuales se comenzaron a optimizar los tiempos de diagnóstico y tratamiento (24).

En este periodo de estudio se presentaron dos brotes epidémicos en 1998 (190 casos, 8,19% del total nacional) y 2002 (249 casos, 9,8% del total nacional; en total se registraron 584 enfermos: 533 con LC (91,26%) y 51 con LMC (8,73%); todos tenían como sitio probable de infección a la zona rural del municipio de Bermejo, con relación laboral o de hábitat en la zona de cultivo de la caña de azúcar y trabajos en el bosque. El sexo de los enfermos mayormente fue masculino con 388 varones (66,4%) y 196 mujeres (33,6%), con una proporción de 2:1. Se observó que 363 pacientes (62%) tenían edad entre 15 a 49 años; 97 (16,6%) mayores de 50 años; 33 menores de 4 años (5,6%) y 91 (15,5%) tenían entre 5 a 15 años. El examen clínico reveló lesiones simples en sus diferentes estados evolutivos (úlceras activas a cicatrices), con diámetro promedio de 2,0 cm (1 a 8 cm); de los 533 pacientes con LC 485 tenían una

única lesión (miembros inferiores: 239, miembros superiores: 129, tronco y abdomen: 68, cara: 49); los restantes 55 pacientes tenían úlceras con localización múltiples.

### **Aspectos epidemiológicos**

El 68% de los enfermos eran migrantes temporales a la zafra de caña de azúcar procedentes de la zona andina (Potosí y otras regiones donde no existe leishmaniasis), el 32% restante eran nativos de la región. El brote de 1998 se desarrolló en la localidad de Naranjitos (Municipio de Bermejo, 15 Km al sur de la ciudad de Bermejo) y el 2002 en Tremental (Municipio de Padcaya, 50 Km al norte la ciudad de Bermejo). La distribución mensual de la detección de casos muestra dos picos de incidencia, el primero en julio (comienzo de la cosecha de caña de azúcar) y el segundo en septiembre (final de la cosecha).

### **Muestreo de *phlebotominae***

Se capturaron 189 especímenes (109 hembras, 80 machos) pertenecientes a 3 especies: *Nyssomyia neivai* (Pinto 1926) (18-19); *Migonemyia migonei* (França), ambas especies antropofílicas y *Evandromyia cortelezii* (Brethes); el 92,6% de las hembras fueron *Nyssomyia neivai*; estas especies habitan en parches residuales de bosque que rodean los cultivos y viviendas, bosque de galería de los ríos principales y sus afluentes, áreas de cultivo y periferia de viviendas (18); a nivel local estos insectos se denominan “Plumillas” (pequeñas plumas).

### **Potenciales reservorios**

En 9716 horas de colocación de trampas, se capturaron 148 especímenes de 9 especies de mamíferos (20) y se identificaron mediante claves dicotómicas (25) como dos especies de roedores introducidas (*Mus musculus*, *Rattus rattus*) y

siete especies nativas. (*Calomys fecundus*, *Akodon* sp.; *Balomys* sp.; *Oligoryzomys destructor*, *Oxymycterus* sp.; *Oxymycterus paramensis*; *Thylamys venustus*); en los mamíferos silvestres capturados no se pudieron realizar otros exámenes debido a la cuarentena por un brote de Hantavirus; en el meticuloso examen clínico-veterinario de los 32 perros, siete tenían lesiones sospechosas en orejas, hocicos y extremidades; en los frotis de 4 de ellos se detectaron formas amastigotas de *Leishmania* sp., evacuándose un perro al Laboratorio Nacional de Parasitología para asegurar el aislamiento y tipificación del parásito (20).

### **Aislamiento y caracterización**

La caracterización con ocho sistemas enzimáticos y seis cepas de referencia nos permitió observar en los sistemas GPI y MDH, que la cepa de perro (riel 2; 6; 9; 12) tiene una migración similar a la cepa de referencia M-2903 (complejo *braziliensis*) carril 5 (figuras 2 y 3).

### **Estudio longitudinal**

#### **Aspectos epidemiológicos**

En 22 años de estudio (1997 a 2018), se registraron 1.250 casos; 1.104 (88,3%) LC y 146 (11,7%) LMC, con un promedio anual inter-epidémico de 37 casos por año, aproximadamente 1,6% del total nacional; el número total de hombres alcanzó a 922 (73,7%) y 328 (26,3%) mujeres (figura 4). (no se discriminó por sexo el valor total de los años 2003 al 2007); el porcentaje de casos importados del interior (La Paz, Santa Cruz, Cochabamba y Pando), o exterior (Argentina), es muy variable por año (3% a 47%); en promedio representan el 18% de los casos registrados.

La notificación de pacientes fue mayor en la época seca (julio a noviembre), con evolución de 2 a 4 meses de sus lesiones ulcerosas, lo que nos hizo presumir que las infecciones debieron adquirirse principalmente entre abril a julio. Aparentemente existirían dos modalidades de transmisión de la enfermedad: i) una transmisión forestal apoyada por la prevalencia de lesiones únicas, adquirida por riesgo laboral, por hombres en edades económicamente productivas, con marcada prevalencia de lesiones en miembros inferiores, seguido de miembros superiores. ii) transmisión nocturna en peri-domicilio y bosques próximos a las viviendas, respaldada por la presencia de lesiones en 33 menores de 4 años y un número importante de pacientes con lesiones en cara (15% de los casos); los municipios de Bermejo y Padcaya son los que notifican el mayor número de casos todos los años, pero a partir del año 2008, otros municipios comenzaron a notificar casos autóctonos (figura 5).

### **Muestreos de Phlebotominae**

Al muestreo inicial de 1997 se añadieron otras dos capturas: 2º captura: INLASA/IRD (2003) (23), 2.503 phlebotominae (2.392 hembras y 111 machos), con predominio de *Ny. neivai*, en Naranjitos, Alto Calama y San Telmo. 3º captura: realizada por el Tec. Julio Vidaurre (2015) (26), en el barrio San José (periferia de la ciudad de Bermejo, se capturaron 22 especímenes: 12 en intradomicilio y 10 peri domicilio: 20 *Ny. neivai* (13 hembras) y 2 *Mg. migonei* (1 hembra), en los tres estudios realizados no se aislaron parásitos de *Leishmania* sp. (cuadro 2).

### **Estudio serológico y PCR**

En la encuesta del 2003, se evidenciaron 35 casos clínicos compatibles con LC, de los cuales se confirmaron 7 casos por microscopía y PCR; se encontró



una prevalencia elevada de personas seroreactivas para la enfermedad de Chagas (33,7% en la prueba de confirmación IFI-Tc). La prevalencia de seroreactividad para las LT fue de 4,8% (IFI-L). Se observó un alto nivel de reacciones cruzadas en ELISA debido a la coexistencia de leishmaniasis y de enfermedad de Chagas en la zona; se observaron 5 casos (0,7%) probables de LV con la prueba ELISA-rk39 siendo necesaria la corroboración (con examen clínico y nueva toma de muestra); la serología para la determinación de anticuerpos contra *Leishmania* y la PCR (9,2% de personas positivas) sugieren la existencia de una población asintomática al inicio del periodo de la zafra (23).

## **Discusión**

El departamento de Tarija no era considerado por el Sistema Nacional de Salud como un área de transmisión documentada de leishmaniasis hasta 1998. El Municipio de Bermejo es una nueva área endemo-epidémica de LT, que se extendió desde el Municipio de Bermejo (1997-1998) a los Municipios de Padcaya el 2002 y Carapari, Entre Ríos y Yacuiba para el año 2018.

Esta zona tiene factores favorables para el desarrollo de esta endemia:

**Humanos:** importantes grupos de inmigrantes andinos inmunológicamente vírgenes, sustrato fértil para una rápida primo-infección, sin pre-exposición a los efectos potencialmente protectores de la saliva de vectores (27,28).

**Antrópicas:** condiciones laborales y viviendas precarias, con bosque residual circundante a las viviendas, ausencia de servicios básicos, crianza de animales intra y extra domiciliarios, pozos, ríos y afluentes que atraen a los mamíferos silvestres sinantrópicos. **Entomológico:** predominio de una especie antropofílica *Ny. neivai*, muy atraídas por las lámparas de aceite en intradomicilio y por animales (cerdos y pollos) de peri-domicilio; sin descartar

que *Mg. migonei* y *Ev. cortelezzii* puedan tener un papel en la transmisión.

**Potenciales reservorios:** presencia de nueve especies de micro mamíferos (roedores, marsupiales) y de perros con registros de infecciones naturales en diferentes países de América. En el área fronteriza de Argentina el parásito aislado de la mayor parte de los casos humanos y caninos y en situaciones epidémicas resultó también *L. (V.) braziliensis* (29,30).

En el primer brote en Naranjitos y alrededores (1998) se registraron 190 casos (prevalencia de 69/10.000 habitantes) y en Tremental y alrededores (2002) 292 casos (prevalencia de 71/10.000 h.); con un promedio anual de 37 casos por año en el período inter-epidémico; En Salta, Argentina los primeros casos autóctonos de LT datan de 1916, en los departamentos de Orán y San Martín, en la eco-región tropical/sub-tropical húmeda compartida entre ambos países, en localidades próximas a la frontera donde se registraron brotes epidémicos entre 1984 y 1987, 1993, 1997-1998 y 2002 (31,32). Las características clínico epidemiológicas en Argentina son compatibles con las del área endémica de Bolivia: grupo etario de enfermos y de diagnóstico de las lesiones cutáneas y mucocutaneas (32), similar parásito, y la misma fauna de vectores antropófilos. La prevalencia de infección resultó más similar entre sexos que la de expresión clínica (32), infección asintomática que puede llegar al 50,8% de la población en comunidades con larga permanencia en zonas hiper-endémicas. En Argentina, como en este estudio, se observó que el riesgo se asocia también al trabajo rural o a la vegetación primaria (33), manejo de ganado, caza, dormir en espacios abiertos, permanecer en el exterior de vivienda por más de diez horas, bañarse en el río, presencia de animales domésticos en el interior del domicilio, aperturas de vivienda sin cerramiento

(33-35), y transmisión peridomiciliaria en viviendas hasta 100-200 metros de la vegetación primaria o secundaria aun en áreas urbanas (36,37), por efecto de borde (38). También, al analizar el riesgo según actividad de exposición hay que tener en cuenta que los vectores tienen diferentes patrones horarios según la estación del año (39,40). Por ello se determinaron los siguientes escenarios de transmisión (31): a) ciclo silvestre-transmisión silvestre; b) ciclo silvestre-transmisión doméstica por contigüidad o modificación ambiental, y 3) ciclo peridoméstico-transmisión peridoméstica por colonización transitoria de vectores como se discutirá más adelante.

Presumimos que la detección tardía de casos (julio y septiembre), puede explicarse por dos razones: el desconocimiento general de la enfermedad en el área y, un proceso lento de confirmación de la enfermedad por parte de los servicios de salud locales; similar situación fue observada en las localidades de Villa Tunari e Ivirgarzama (Chapare, departamento de Cochabamba) en 1986, donde clínica y epidemiológicamente las lesiones evidentes de LC eran reportadas por meses como "curación de herida", los médicos recién egresados esos años no conocían la existencia de la leishmaniasis en esta zona (Mollinedo S. datos no publicados). Sin embargo, en relación con los meses de diagnóstico de casos el patrón anual es semejante al encontrado en Argentina, que fue asociado a la dinámica anual de población de vectores y el ciclo intrínseco de incubación en los hospederos humanos (41,42); Así, los períodos epidémicos en la región fronteriza con Bolivia 1986-1987, 1990-1991, 1996-1998 y 2000-2004 estuvieron asociados al otoño y primavera, asociado en alguno de ellos a eventos extraordinarios de precipitación y de deforestación (43). Por otra parte, los antecedentes de la fecha probable de infección,

evolución de las lesiones y signos clínicos de los 51 pacientes con lesiones mucosas reportados en el estudio de brote, revelan años de evolución de lesiones cutáneas no diagnosticadas ni tratadas por el sistema de salud, sugiriendo la existencia de casos de LT años antes de la primera notificación; el porcentaje total de casos mucosos fue de 11%.

En Bolivia la especie más frecuentemente aislada es *Leishmania (Viannia) braziliensis*, a la primera cepa aislada en Tarija (perro -2002), se añaden tres otras cepas aisladas de pacientes bolivianos con genotipos AB1 y AB2 (36); en el norte argentino se han confirmado casos poco frecuentes atribuidos a *Leishmania (Viannia) guyanensis* y *Leishmania (Viannia) panamensis* (30), y *Leishmania (Leishmania) amazonensis* (44).

Tanto la distribución relativa de flebótomos por regiones como su significativa biodiversidad en el Neotrópico generan diferentes escenarios epidemiológicos; además la densidad relativa de flebótomos depende de diferentes factores; las escasas investigaciones realizadas en Tarija-Bolivia (3203 Phlebotominae de cuatro especies notificadas), tienen amplia documentación en la región Salta (Argentina) incluyendo fundamentalmente a *Ny. neivai*, *Mg. migonei*, que han sido incriminadas en la literatura como vectores de *L. (V) braziliensis*, y se encontraron naturalmente infectadas en Argentina, junto a *Ev. cortelezzii*, *Psathromyia bigeniculata*, *Psa. punctigeniculata*, *Micropygomyia quinquefer* (37). *Nyssomyia neivai* es la más abundante en bosques secundarios y ambientes peri-domésticos asociados con casos humanos, los ciclos estimados de correlación de abundancia entre los ambientes silvestres y peri-doméstico permiten inferir que los primeros funcionan como poblaciones fuente de los segundos, que pueden tener poblaciones que se extinguen en momentos

climáticos no favorables, pero persisten durante los brotes. Se encontró asimismo asociación entre la abundancia de *Ny. neivai* y la precipitación del año anterior (42,43). Los mapas predictivos de distribución de ambos vectores en la región se relacionan a su vez con la precipitación durante el trimestre más cálido y la temperatura media durante trimestre más frío (42-44).

La captura de abundante de *Ny. neivai*, especie antropofílica, su infección natural y concordancia espacio-temporal con transmisión y brotes, permitió incriminarla como vector principal de *L. (V.) braziliensis* en otros países (Noroeste de Argentina y Sureste de Brasil) (45,46); cumpliendo los criterios citados por Killick-Kendrick (1988).

En relación con el área fronteriza con Bolivia, se registraron entre 2008 y 2011 tres casos de LV humana y canes infectados, en una zona de vegetación xerófila, selvática o rural dispersa a muy pocos kilómetros de Bolivia, sin registro de *Lu. longipalpis*, en un paisaje y con una relación casos humanos: perros muy similar a los registrados en las primeras décadas del siglo XX en la zona (12,47,48). Sin embargo, en Tartagal, a 55 km de la frontera, se registró *Lu. longipalpis* de distribución urbana (49,50), con un patrón similar al que se observó en el proceso de dispersión del nordeste de Brasil a Argentina entre los años 1980 y 2004 (51). En ese sentido, es interesante que los ejemplares de *Lu. longipalpis* capturados en Tartagal presenten, según sus marcadores genéticos mitocondriales y diversidad haplotípica, características tanto de una población ancestral estable diferente a las de reciente introducción con agrupación propia, quizás perteneciente al dominio amazónico compartido con Bolivia, pero también características del agrupado Argentina-Brasil en expansión (51).

Leishmaniasis visceral: En los cinco casos (0,7%) positivos en ELISA rk-39, la revisión clínica y nueva toma de muestras no pudo realizarse por el rechazo de los familiares y óbito de uno de los niños con signo sintomatología fuertemente sospechosa (23). La coexistencia de infecciones dobles por especies de *Leishmania* y *Trypanosoma cruzi* debe considerarse en el uso de métodos de diagnóstico (44). Los entornos urbano-rurales estudiados están rodeados de remanentes de bosque y ofertan fuentes de alimentos para los vectores (crianza de pollos, cerdos, perros y otros), la importante actividad agrícola, los bajos índices de desarrollo humano, ausencia de servicios básicos, son potenciales factores coadyuvantes para la ocurrencia de enfermedades tropicales. La información recolectada indica que el brote inicial de *Leishmania (V) braziliensis*, en el municipio de Bermejo aparentemente se está extendiendo en dirección noreste y actualmente toma otros cuatro municipios (Padcaya, Carapari, Entre Ríos, Yacuiba), sugiriendo que *Ny. neivai* se está adaptando al entorno peri-doméstico. Para mitigar el riesgo es necesario aumentar la capacidad para enfrentar la epidemia lograda del SEDES Tarija: diagnóstico de laboratorio (no sólo básico), reserva estratégica de medicamentos, vigilancia activa de casos, muestreos entomológicos regulares y principalmente sensibilizar a la población (trabajadores, empresarios y autoridades) a fin de plantear estrategias participativas de control: prevención (ropa protectora y hábitos), diagnóstico temprano, tratamiento oportuno de los casos, desarrollo de modelos predictivos, sistemas de alerta temprana y control de vectores estacionales (con estudios de evaluación pre y post rociado intra-domiciliario y fumigado peri-doméstico para determinar su efectividad), control de potenciales reservorios (roedores) y manejo de animales domésticos y poblaciones

caninas, incluyendo tenencia responsable, capacidad de carga de la localidad y animales deambulantes). La similitud de escenarios eco-epidemiológicos y de factores desencadenadores de brote, climáticos y de modificación ambiental, posiblemente simultáneos en la zona de frontera, implica la necesidad de estudios conjuntos, y de vigilancia y manejo de casos coordinada entre Bolivia (Tarija-Chuquisaca) y Argentina (Salta-Jujuy). De la misma manera, la identificación de grupos y actividades en riesgo, incluyendo migrantes y exposición laboral, con seguimiento conjunto en ambos países permitirá mejorar la oportunidad de diagnóstico y tratamiento y generar recomendaciones de prevención específicas. Estas últimas no solamente a nivel individual, sino de responsabilidad pública y privada en relación con la regulación, evaluación de riesgo y mitigación, asociada a la modificación ambiental y riesgo en bordes (asentamientos, deforestación, cultivos), y a la prevención ante eventos climáticos extraordinarios.

### **Agradecimientos**

Se agradece el apoyo y la colaboración de las autoridades, profesionales, técnicos y personal de apoyo de SEDES Tarija, en particular al personal del Distrito de Salud de Bermejo, Padcaya, Entre Ríos y Yacuiba; al personal del Hospital Virgen de Chaguaya; los procesos en biología molecular realizados por los técnicos y al personal del INLASA y del IRD. Además de las personas encargadas por la estadística, diseño e informática del presente artículo.

### **Conflicto de intereses**

Los autores declaran que no tienen intereses en competencia.

### **Financiación**

Fondos económicos provistos por el Ministerio de Salud, Bolivia.

## Referencias

1. **Alvar J, Vélez ID, Bern C, Herrero M, Desjeux P, Cano J, et al.**  
Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence. PLoS One. 2012;7:1-12. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0035671>
2. **Lainson R, Shaw JJ.** New world leishmaniasis. In: Cox FE, Kreier JP, Wakelin D, editors. Microbiology and Microbial infections, Parasitology. London, Sydney, Auckland: Topley & Wilson's Arnold; 2005.
3. **Shaw JJ.** Taxonomy of the genus *Leishmania*: present and future trends and their implications. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1994;89:471-8.  
<https://doi.org/10.1590/S0074-02761994000300033>
4. **Mollinedo S, Monasterios H, Magne M, Vallejos E, Velarde J, Chuquimia G.** Leishmaniasis - Guía operativa para el control en Bolivia. Serie de documentos técnico-normativos. La Paz: Ministerio de Salud y Deportes; 2007. Fecha de la consulta: 11 de enero de 2019. Disponible en:  
[https://www.researchgate.net/publication/277311188\\_Leishmaniasis\\_-\\_Guia\\_Operativa\\_para\\_el\\_Control\\_en\\_Bolivia](https://www.researchgate.net/publication/277311188_Leishmaniasis_-_Guia_Operativa_para_el_Control_en_Bolivia)
5. **Mollinedo S.** CD interactivo de "Leishmaniasis en Bolivia". La Paz: Ministerio de Salud; 2007.
6. **Pardo-Valle N.** La espundia en territorio boliviano. Revista del Instituto Médico de Sucre. 1906;1:8-11.
7. **Quintana H, Etcheverry JB.** Leishmaniosis americana en la Provincia de Jujuy. Cong Nac Medicina (Buenos Aires). 1917;1:847-60.
8. **Villalonga JF.** Leishmaniosis tegumentaria americana: clínica y tratamiento. Rev Fac Med Tucumán. 1963;6:197-208.



9. **Bernasconi VE.** Consideraciones sobre el censo de leishmaniosis. Rev Soc Patol Reg Norte. 1930;5:590-602.
10. **Sosa-Estani S, Campanini A, Sinagra A, Luna C, Peralta M, Coutada V, et al.** Características clínicas y diagnóstico de la Leishmaniasis mucocutánea en pacientes de un área endémica de Salta. Medicina (Buenos Aires). 1998;58:685-91.
11. **Salomón OD, Rossi G, Sosa Estani S, Spinelli G.** Presencia de *Lutzomyia longipalpis* y situación de la leishmaniosis visceral en Argentina. Medicina (Buenos Aires). 2001;61:174-8.
12. **Barrio A, Parodi CM, Locatelli F, Mora MC, Basombrío MA, Korenaga M, et al.** *Leishmania infantum* and human visceral leishmaniasis, Argentina. Emerg Infect Dis. 2012;18: 354-5.  
<https://doi.org/10.3291/eid1802.110924>
13. **Instituto Nacional de Estadística.** Censo de Población y Vivienda  
Fecha de consulta: 3 de enero de 2019]. Disponible en:  
<https://www.ine.gob.bo/index.php/principales-indicadores/item/246-censo-de-poblacion-y-vivienda-2012/>
14. **Mollinedo S.** Manual de diagnóstico de procedimientos de laboratorio para el diagnóstico de las leishmaniasis. La Paz: Ministerio de Salud y Deportes; 2006.
15. **Mollinedo S.** Manual práctico de tratamiento de las leishmaniasis. La Paz: Instituto Nacional de Laboratorios de Salud; 2006. Fecha de consulta: 12 de enero de 2019. Disponible en: [www.bionica.info/biblioteca/Mollinedo2002.pdf](http://www.bionica.info/biblioteca/Mollinedo2002.pdf)

16. **Mollinedo S.** 1 Las Leishmaniosis - Modulo de Auto aprendizaje para auxiliares de servicios de salud. Serie de Documentos Técnico normativos. Publicación 81. La Paz: Ministerio de Salud; 2008. Fecha de consulta: 12 de enero de 2019. Disponible en:  
[https://www.researchgate.net/publication/309282490\\_Las\\_Leishmaniosis\\_-\\_Modulos\\_de\\_auto\\_aprendizaje\\_para\\_Tecnicos\\_de\\_Laboratorio](https://www.researchgate.net/publication/309282490_Las_Leishmaniosis_-_Modulos_de_auto_aprendizaje_para_Tecnicos_de_Laboratorio)
17. **Mollinedo S.** Técnicas de laboratorio para el diagnóstico de las leishmaniosis. Módulo de auto aprendizaje para técnicos de laboratorio. Serie de Documentos Técnico normativos. Publicación 82. La Paz: Ministerio de Salud; 2008. Fecha de consulta: 12 de enero de 2019. Disponible en: <https://es.scribd.com/document/371628714/Dx-de-Leishmania>
18. **Marcondes CB, Le Pont F, Lazovei AI.** *Lutzomyia neivai* (Pinto 1926) in Bolivia (*Diptera, Psychodidae, Phlébotominae*). Mem Inst Oswaldo Cruz. 1998;93:203-4. <https://doi.org/10.1590/S0074-02761998000200013>
19. **Marcondes CB.** A redescription of *Lutzomyia* (*Nyssomyia*) *intermedia* (Lutz & Neiva, 1912), and resurrection of *L. Neivai* (Pinto 1926) (*Diptera, Psychodidae, Phlebotominae*). Mem Inst Oswaldo Cruz. 1996;91:457-62. <https://doi.org/10.1590/S0074-02761996000400012>
20. **Barrozo BG.** Estudio de *Leishmania spp.* en canes infestados en el Distrito de Salud V de Bermejo, Tarija. [Tesis]. Tupiza: Universidad Autónoma Tomas Frías; 2001.
21. **Breniere SF, Bosseno MF, Revollo D, River MT, Carlier Y, Tibayrenc M.** Direct identification of *Trypanosoma cruzi* natural clones in vectors and mammalian hosts by polymerase chain reaction amplification. Am J

- Trop Med Hyg. 1992;46:335-41.  
<https://doi.org/10.4269/ajtmh.1992.46.335>
22. **Breniere SF, Telleria J, Bosseno MF, Buitrago R, Bastrenta B, Cuny G, et al.** Polymerase chain reaction based identification of New World *Leishmania* species complexes by specific kDNA probes. Acta Trop. 1999;73:283-93. [https://doi.org/10.1016/S0001-706X\(99\)00025-X](https://doi.org/10.1016/S0001-706X(99)00025-X)
23. **Flores M, Brutus L, Schneider D, Postigo J, Alvar J, Cruz L, et al.** La leishmaniasis durante el periodo de zafra en el municipio de Bermejo (Tarija), año 2003: Evaluación de la PCR como herramienta epidemiológica. Informe técnico N° 21. La Paz: INLASA – IRD; 2003.
24. **Mollinedo S, Torrez M, Le Pont F.** Re-emergencia de la leishmaniasis en Tarija, frontera con la Argentina (Nota preliminar). Informe técnico N° 7. La Paz: INLASA – IRD; 2002.
25. **Anderson S.** Los mamíferos bolivianos: notas de distribución y claves de identificación. La Paz: Universidad Mayor de San Andrés; 1993.
26. **Vidaurre J.** Informe técnico capturas en barrio San José, ciudad de Bermejo, Tarija. Tarija: Programa de Control de la Leishmaniasis; 2015.
27. **Ockenfels B, Michael E, McDowell MA.** Meta-analysis of the effects of insect vector saliva on host immune responses and infection of vector-transmitted pathogens: a focus on leishmaniasis. PLoS Negl Trop Dis. 2014;8:e3197. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003197>
28. **Gomes R, Cavalcanti K, Teixeira C, Carvalho AM, Mattos PS, Cristal JR, et al.** Immunity to *Lutzomyia whitmani* saliva protects against experimental *Leishmania braziliensis* infection. PLoS Negl Trop Dis. 2016;10:e0005078. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005078>

29. **Roque ALR, Jansen AM.** Wild and synanthropic reservoirs of *Leishmania* species in the Americas. *Int J Parasitol Parasites Wildl.* 2014;3:251-62. <https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2014.08.004>
30. **Marco JD, Barroso PA, Mimori T, Locatelli FM, Tomatani A, Mora MC, et al.** Polymorphism-specific PCR enhances the diagnostic performance of American tegumentary leishmaniasis and allows the rapid identification of *Leishmania* species from Argentina. *BMC Infect Dis.* 2012;12:191. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-12-191>
31. **Salomón OD, Quintana MG, Rosa JR.** Ecoepidemiología de la leishmaniasis cutánea en Argentina. *Salud(i)Ciencia.* 2008;16:514-20.
32. **Sosa Estani S, Segura EL, Gómez A, Salomón OD, Peralta M, Coutada V, et al.** Leishmaniose cutânea no Norte da Argentina. Fatores de risco identificados num estudo caso-coorte em três municípios de Salta. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2001;34:511-7. <https://doi.org/10.1590/S0037-86822001000600003>
33. **Krolewiecki AJ, Gil JF, Quipildor M, Cajal SP, Pravia C, Juarez M, et al.** Restricted outbreak of American tegumentary leishmaniasis with high microfocal transmission. *Am J Trop Med Hyg.* 2013;88:578-82. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.12-0475>
34. **Hoyos CL, Cajal SP, Juarez M, Marco JD, Alberti D'Amato AM, Cayo M, et al.** Epidemiology of American tegumentary leishmaniasis and *Trypanosoma cruzi* infection in the Northwestern Argentina. *Biomed Res Int.* 2016;2016:6456031. <https://doi.org/10.1155/2016/6456031>
35. **Salomón OD, Quintana MG, Zaidenberg M.** Urban distribution of *Phlebotominae* in a cutaneous leishmaniasis focus, Argentina. *Mem Inst*

- Oswaldo Cruz. 2008;103:282-7. <https://doi.org/10.1590/S0074-02762008005000016>
36. **Copa GN, Almazán MC, Aramayo LV, Krolewiecki AJ, Cajal SP, Juárez M, et al.** Tegumentary leishmaniasis and sand flies in a border área between Argentina and Bolivia. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2019;113:91-100. <https://doi.org/10.1093/trstmh/try113>
37. **Chanampa MD, Gleiser RM, Hoyos CL, Copa GN, Mangudo C, Nasser JR, et al.** Vegetation cover and microspatial distribution of sand flies (*Diptera: Psychodidae*) in an endemic locality for cutaneous leishmaniasis in Northern Argentina. *J Med Entomol.* 2018;55:1431-9. <https://doi.org/10.1093/jme/tjy129>
38. **Gil JF, Nasser JR, Cajal SP, Juárez M, Acosta N, Cimino RO, et al.** Urban transmission of American cutaneous leishmaniasis in Argentina: spatial analysis study. *Am J Trop Med Hyg.* 2010;82:433-40. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.2010.09-0113>
39. **Fuenzalida AD, Quintana MG, Lizarralde de Grosso MS, Salomón OD.** Hourly activity of *Lutzomyia neivai* in the endemic zone of cutaneous leishmaniasis in Tucumán, Argentina. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2011;106:635-8. <https://doi.org/10.1590/S0074-02762011000500020>
40. **Salomón OD, Zaidenberg M, Burgos R, Heredia VI, Caropresi SL.** American cutaneous leishmaniasis outbreak, Tartagal city, province of Salta, Argentina, 1993. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 2001;43:105-8. <https://doi.org/10.1590/S0036-46652001000200010>
41. **Quintana MG, Fernández MS, Salomón OD.** Distribution and abundance of *Phlebotominae*, vectors of leishmaniasis, in Argentina:

- Spatial and temporal analysis at different scales. J Trop Med. 2012;2012:652803. <https://doi.org/10.1155/2012/652803>
42. **Salomon OD, Wilson ML, Munstermann LE, Travi BL.** Spatial and Temporal Patterns of Phlebotominae Sand Flies (*Diptera: Psychodidae*) in a cutaneous leishmaniasis focus in Northern Argentina. J Med Entomol 2004;41:33-9. <https://doi.org/10.1603/0022-2585-41.1.33>
43. **Quintana M, Salomón O, Guerra R, Lizarralde de Grosso M, Fuenzalida AD.** *Phlebotominae* of epidemiological importance in cutaneous leishmaniasis in northwestern Argentina: risk maps and ecological niche models. Med Vet Entomol. 2013;27:39-48. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2915.2012.01033.x>
44. **Frank FM, Fernandez MM, Taranto NJ, Cajal SP, Castro E, Thomaz-Soccol V, et al.** Characterization of human infection by *Leishmania* spp. in the Northwest of Argentina: immune response, double infection with *Trypanosoma cruzi* and species of *Leishmania* involved. Parasitology. 2003;126:31-9.
45. **Córdoba-Lanús E, Lizarralde De Grosso M, Piñero JE, Valladares B, Salomón OD.** Natural infection of *Lutzomyia neivai* with *Leishmania* spp. in north-western Argentina. Acta Tropica. 2006;98:1-5. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2005.11.010>
46. **Godoy RE, Galati EA, Cordeiro-Estrela P, De Souza NA, Dos Santos TV, De Sousa LC, et al.** Comparative study of the *phlebotomine* sand fly species (*Diptera: Psychodidae: Phlebotominae*) of the genera *Nyssomyia* Barretto, 1962, *Bichromomyia* Artemiev, 1991, and *Migonemyia* Galati,

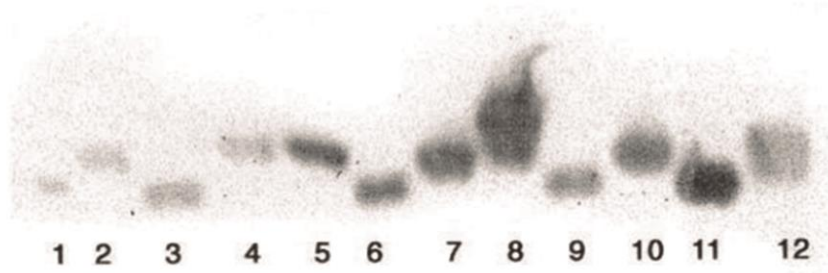
- 1995, vectors of American cutaneous leishmaniasis in Brazil. Zootaxa. 2014;3838:501-17. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.3838.5.1>
47. **Gould TI, Perner MS, Santini MS, Saavedra SB, Bezzi G, Maglianese MI, et al.** Leishmaniasis visceral en la Argentina: notificación y situación vectorial (2006-2012). Medicina (Buenos Aires). 2013;73:104-10.
48. **Barroso PA, Marco JD, Locatelli FM, Cardozo RM, Hoyos CL, Mora MC, et al.** Visceral leishmaniasis caused by *Leishmania infantum* in Salta, Argentina: possible reservoirs and vectors. Am J Trop Med Hyg. 2015;93:334-9. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.14-0267>
49. **Gómez-Bravo A, Quintana MG, Abril M, Salomón OD.** The first record of *Lutzomyia longipalpis* in the Argentine northwest. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2013;108:1071-3. <https://doi.org/10.1590/0074-0276130358>.
50. **Salomón OD, Feliciangeli MD, Quintana MG, Afonso MM, Rangel EF.** *Lutzomyia longipalpis* urbanisation and control. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2015;110:831-46. <https://doi.org/10.1590/0074-02760150207>
51. **Pech-May A, Ramsey JM, Ittig RE, Giuliani M, Berrozpe P, Quintana MG, et al.** Genetic diversity, phylogeography and molecular clock of the *Lutzomyia longipalpis* complex (Diptera: Psychodidae). PLoS Negl Trop Dis. 2018;12:e0006614. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006614>



Figura. 1- Zona geográfica de estudio de brotes de leishmaniasis de 1998-2002; Municipios de Bermejo y Padcaya del Departamento de Tarija; localidades estudiadas por años subrayadas.



**GPI**



**MDH**

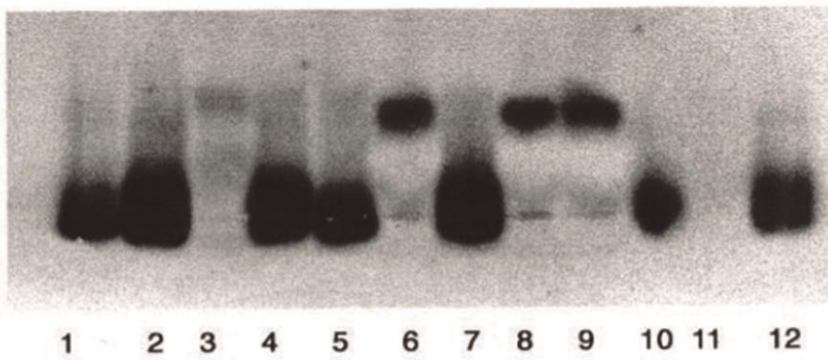


Figura 2 - 1: LPZ; 2: cepa del perro; 3: LV 135 (complejo mexicana); 4: cepa del perro; 5: M2903 (complejo braziliensis); 6: *L. infantum*; 7: cepa del perro; 8: cepa paciente a; 9: PP75 (complejo donovani); 10: cepa perro; 11: PH8 (complejo mexicana); 12: cepa paciente b.  
Fuente: Vargas F, Bastrenta B, Mita N, Flores M. 2003. Informe interno, no publicado.

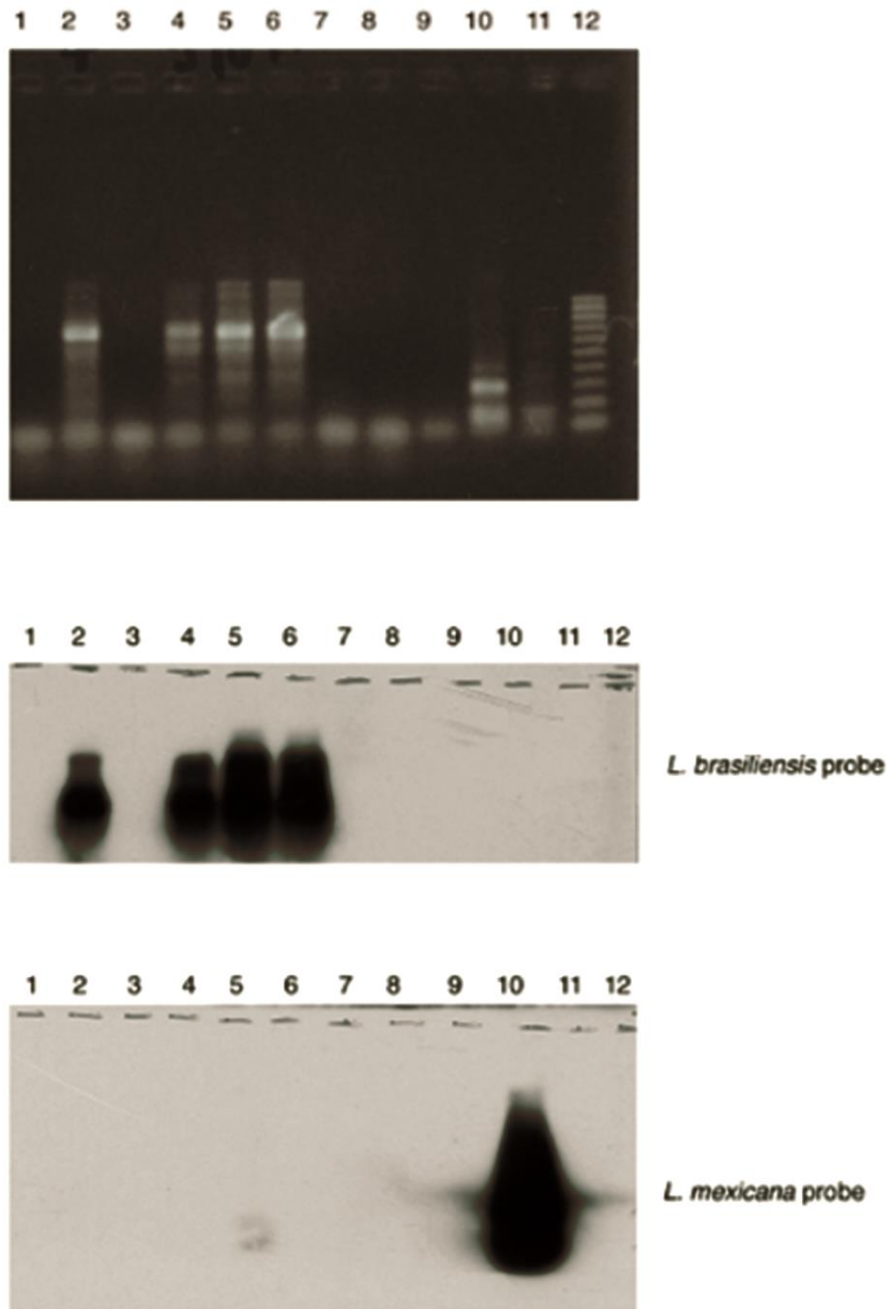


Figura.3 - 1: control negativo; 2: cepa de referencia (*L. (V) braziliensis*); 3: control negativo; 4: cultivo de la lesión del perro; 5: cultivo de la lesión del perro; 6: cultivo de la lesión del perro; 7: control negativo; 8: control negativo; 9: control negativo; 10 cepa de referencia (*L. (L) mexicana*); 11: cepa de referencia (*L. (L) infantum*); 12 PCR marcador de bajo peso molecular de baja potencia de 100 pb. Fuente: Vargas F, Bastrenta B, Mita N, Flores M. 2003. Informe interno, no publicado.

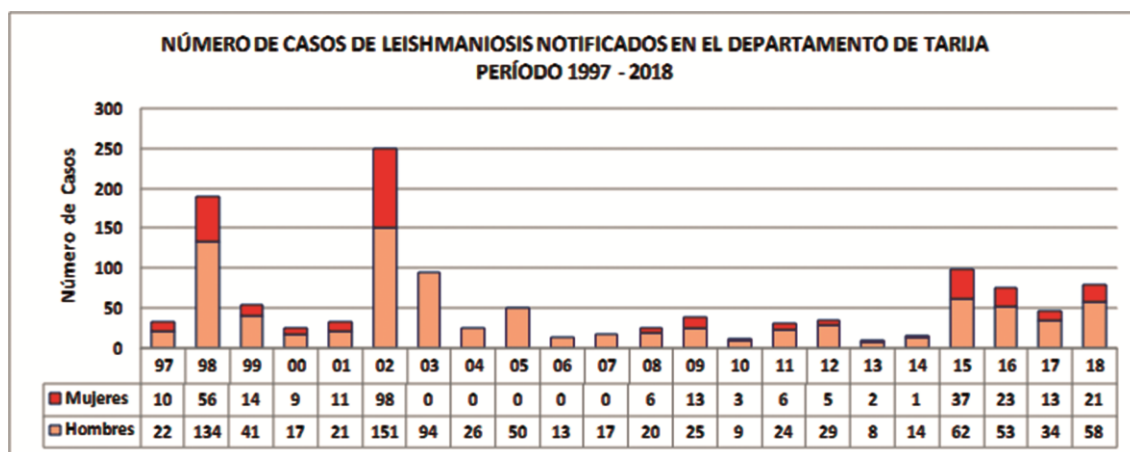


Figura.4 - Número de casos de leishmaniasis tegumentaria en el departamento de Tarija, periodo 1997-2018, por años y sexo. Fuente: Elaboración propia.

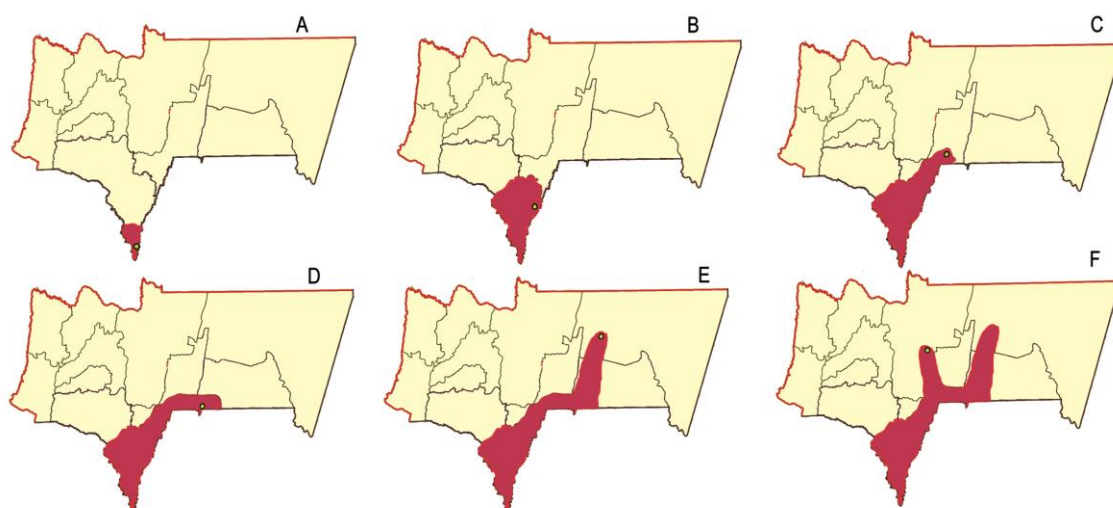


Figura.5.- Progresión de casos de LTA por Municipios y años en el departamento de Tarija;

A: Naranjitos, primer brote año 1998, Municipio de Bermejo.

B: Tremental, segundo brote 2002, Municipio de Padcaya.

C: Sidras (19,2% de casos notificados año 2008), Municipio de Carapari.

D: Lapachal (10% de los casos notificados año 2011), Municipio de Yacuiba.

E: El Angosto (6,6% de los casos notificados año 2014), Municipio Villamontes.

F: Ñaurenda (1,3% de los casos notificados año 2016), Municipio Entre Ríos.

Fuente: Elaboración propia.

**Estudios anuales etarios por tipos de lesiones de leishmaniasis en Tarija, Bolivia.**

Año	Tipo de lesión	Grupos de edad (años)				TOTAL
		1 a 4	5 a 14	15 a 49	50 o más	
1997	Cutánea	5	4	17	4	30
	Cutáneo mucosa	0	1	1	0	2
1998	Cutánea	7	32	114	26	179
	Cutáneo mucosa	0	1	6	4	11
1999	Cutánea	4	7	30	8	49
	Cutáneo mucosa	0	0	4	2	6
2000	Cutánea	2	1	10	5	18
	Cutáneo mucosa	0	0	5	3	8
2001	Cutánea	0	2	14	6	22
	Cutáneo mucosa	0	1	7	2	10
2002	Cutánea	15	40	144	36	235
	Cutáneo mucosa	0	2	11	1	14
Sub total L. cutánea		33	86	329	85	533
Sub total L. cutáneo mucosa		0	5	34	12	51
TOTAL		33	91	363	97	584

Cuadro 1 - Número de casos de Leishmaniasis cutánea y mucosa según grupos etarios, por años y edad. Fuente: Mollinedo S. Informe Anual Laboratorio Nacional de Parasitología, 2002.

**Especies de Phlebotominae capturadas en cuatro localidades de Tarija, Bolivia**

LUGAR	AÑO	Especies de Phlebotominae (hembras)					N° total capturas
		<i>Nyssomyia</i> <i>neivai</i>	<i>Migonemyia</i> <i>migonei</i>	<i>Evandromyia</i> <i>cortelezzii</i>	<i>Lutzomyia</i> <i>longipalpis</i>	Sin clasificar	
<b>Fortín Campero (17)</b>	1997	101	4 p cf	4 p cf	0	0	<b>109 (80 M)</b>
<b>Calama y San Pedro (22)</b>	2003	2302 (92%)	70 (2,8%)	9 (0,36%)	0	122 (4,84%)	<b>2381 (122 M)</b>
<b>Bermejo ciudad (23)</b>	2015	20 (91%)	2 (9%)	0	0	0	<b>22</b>

Cuadro 2 - Número y/o porcentaje de Phlebotominae muestreados por año en el Departamento de Tarija, por especie y lugar de captura. M: número de machos. p cf: por confirmar. Fuente: elaboración propia.